

Mikrobielles Leben auf Blattoberflächen

Vorholt, Julia

Veröffentlicht in:
Jahrbuch 2008 der Braunschweigischen
Wissenschaftlichen Gesellschaft, S.100-108



J. Cramer Verlag, Braunschweig

Mikrobielles Leben auf Blattoberflächen*

JULIA VORHOLT

Institut für Mikrobiologie, ETH Zürich
Wolfgang-Pauli-Strasse 10, CH-8093 Zürich

Sehr geehrter Herr Präsident, lieber Herr Thauer, liebe Frau Thauer, sehr geehrte Festgemeinde,

es ist eine grosse Freude, dass die Carl Friedrich Gauss-Medaille dieses Jahr an Professor Thauer verliehen wird. Gerne wirke ich aus diesem Anlass am Wissenschaftlichen Symposium und damit auch an Ihrer heutigen Jahresversammlung mit. Wie Sie dem Titel meines Vortrags entnehmen, möchte ich Ihnen im Folgenden einen Einblick in das mikrobielle Leben auf Oberflächen von Blättern geben. Bevor ich auf diesen Lebensraum für Kleinstlebewesen zu sprechen komme, möchte ich das Thema in einen breiteren Kontext stellen und zunächst allgemeine Fragen formulieren: Welche besonderen Eigenschaften sind dafür verantwortlich, dass sich ein Mikroorganismus an einem Ort vermehren kann? Besonders spannend erscheinen Stoffwechselleistungen, die es Mikroorganismen erlauben, praktisch überall zu existieren. Im Laufe ihrer fast vier Milliarden Jahre dauernden Evolutiongeschichte haben insbesondere die zellkernlosen prokaryontischen Organismen, d.h. Bakterien und Archaeen, eine enorme Vielfalt an Eigenschaften und Anpassungsmechanismen an verschiedene Lebensräume entwickelt. Eine zweite Frage lautet: Welche Bedeutung haben Mikroorganismen in ihrer Umgebung? Sie katalysieren vielfältige Prozesse beim Ab- bzw. Umbau organischer und anorganischer Substanzen. Sie haben durch ihre katalytischen Eigenschaften die Erdgeschichte entscheidend mitgeprägt, und spielen auch heute eine Schlüsselrolle in den globalen Kreisläufen der Elemente. Mikroorganismen können dabei freilebend vorkommen oder in Ge-

* Der Vortrag wurde am 16.05.2008 beim Kolloquium anlässlich der Jahresversammlung der Braunschweigischen Wissenschaftlichen Gesellschaft gehalten.

meinschaft mit höheren Lebewesen wie zum Beispiel Pflanzen. Viele dieser Prozesse erscheinen unspektakulär im Vergleich zu Krankheitserregern, die ihr Umfeld zerstören. Unspektakulär erscheinen sie aber nur deshalb, weil sie Teil eines ausbalancierten Systems sind, das den Normalfall darstellt und als selbstverständlich angesehen wird.

Im Folgenden möchte ich Ihnen ein bedeutendes natürliches System für Mikroorganismen vorstellen und die erwähnten Fragen im spezifischen Kontext aufgreifen. Pflanzen besitzen die wichtige Fähigkeit, mit Hilfe der Photosynthese das Sonnenlicht als Energiequelle zu nutzen, um zum Leben notwendige organische Stoffe wie Zucker aus Kohlendioxid herzustellen und Sauerstoff aus Wasser freizusetzen. Den eigentlichen Ort der Reaktionen der Photosynthese stellen die Chloroplasten dar, die Endosymbionten bakteriellen Ursprungs sind und in den Pflanzenzellen vorkommen. Dabei wird ausschliesslich Kohlendioxid als Kohlenstoffquelle genutzt. Einen Teil der assimilierten Verbindungen geben die Pflanzen wieder ab. Insbesondere gilt dies für den Wurzelbereich. Dort werden bis zu 20% des assimilierten Kohlenstoffs wieder als Exsudate ausgeschieden. Diese Verbindungen stellen die Grundlage für eine dichte Besiedlung des Raums um die Wurzeln durch Mikroorganismen dar. 1904 führte Lorenz Hiltner den Begriff „Rhizosphäre“ ein, um dieses Habitat für Mikroorganismen zu beschreiben.

Der Rhizosphäre können wir die Phyllosphäre gegenüberstellen, den Bereich der oberirdischen Teile von Pflanzen. Die Hauptmasse der Phyllosphäre machen dabei die Blätter aus. Der Begriff „Phyllosphäre“ wurde erst vor etwas mehr als 50 Jahren durch F. Last eingeführt und begründete das Gebiet der Mikrobiologie der Phyllosphäre. Historisch gesehen ist dieses Forschungsgebiet deutlich jünger als das der Rhizosphäre. Auch in der Phyllosphäre befinden sich Mikroorganismen. Diese leben an der Grenzfläche zwischen Pflanze und Atmosphäre. Ein schematischer Blattquerschnitt zeigt, dass die Blätter von einer Epidermis an der Ober- und Unterseite umgeben sind. Im Blattinneren befinden sich die Zellen, die die Chloroplasten enthalten und für die Photosynthese verantwortlich sind. Zwischen diesen Zellen sind meist große Zwischenräume, die über die Spaltöffnungen direkt mit der Außenluft verbunden sind. Der Epidermis ist eine hydrophobe Wachsschicht aufgelagert, die Cuticula, die das Verdunsten aus dem Blattinneren vermindert sowie den Austritt von Nährstoffen an die Oberfläche begrenzt. Dennoch gelangen Nährstoffe auf die Blattoberfläche, wo sie dann die Lebensgrundlage für Mikroorganismen darstellen können. Und tatsächlich gibt es Mikroorganismen, die auf der Epidermis des Blattes leben. Man spricht von Epiphyten auf der Oberfläche im Gegensatz zu Endophyten, die im Inneren der Pflanze leben.

Wir können uns vorstellen, dass das Leben auf Blattoberflächen besondere Anforderungen an die dort lebenden Mikroorganismen stellt, insbesondere in Hinblick auf UV-Strahlung, Temperaturschwankungen, die Verfügbarkeit von Wasser und das begrenzte Vorkommen von Nährstoffen. Dieser Lebensraum kann

für die dort lebenden Mikroorganismen extreme Bedingungen bedeuten. Ausschlaggebend sind dabei weniger die einzelnen Parameter selbst, als vielmehr ihre Kombination und schnell auftretende Veränderungen. Wir können erwarten, dass im Laufe der Evolution Anpassungsmechanismen entstanden sind. Diese erlauben den Mikroorganismen, auf Pflanzen nicht nur zu überleben, sondern sich dort auch zu vermehren. Zahlenmäßig dominieren Bakterien die mikrobielle Population auf Blattoberflächen im Vergleich zu den dort auch vorkommenden Pilzen. Bakterien haben in der Regel eine Größe von ein bis zwei Mikrometern. Dementsprechend groß ist die Zahl der Bakterien, die auf einem Quadratzentimeter Blattoberfläche Platz haben: Schätzungen belaufen sich auf ein bis 10 Millionen Zellen pro Quadratzentimeter. Die gesamte Oberfläche von terrestrischen Pflanzen wird auf eine Milliarde Quadratkilometer geschätzt. Dies entspricht etwa dem Zweifachen der gesamten Erdoberfläche. Damit ist der Lebensraum der Blattoberflächen eine der größten biologischen Oberflächen, die von Mikroorganismen bewohnt werden.

Die Oberfläche von Blättern ist mikroskopisch gut zu untersuchen. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Blattoberflächen zeigen, dass die Oberfläche nicht eben ist, sondern einer „Hügellandschaft“ gleicht – dies zumindest aus der Perspektive eines Bakteriums. Die Bakterien befinden sich insbesondere in den Vertiefungen, die die Zellen der Epidermis bilden, da dort vermutlich die Feuchtigkeit länger zurückgehalten wird und mehr Nährstoffe verfügbar werden.

Eine weitere Möglichkeit, die Anwesenheit von Mikroorganismen auf Blattoberflächen zu verdeutlichen, sind Blattabdrücke auf ein festes Nährmedium. Hier beeinflusst die Zusammensetzung des Mediums, welche Mikroorganismen sich nach Entfernen des Blattes auf der Oberfläche des Mediums vermehren können. Es dauert mehrere Tage, bis sich die Mikroorganismen auf diesem künstlichen Labormedium soweit vermehrt haben, dass wir sie mit bloßem Auge als Kolonien erkennen können. Die Position des Blattes und die Art des Blattes, das auf die Oberfläche gedrückt wurde, lässt sich an den Konturen leicht erkennen. Dabei wird gleichzeitig erkennbar, dass unterschiedliche Arten von Mikroorganismen auf einem Blatt vorkommen, und die Verschiedenartigkeit der bakteriellen Kolonien auf dem Nährmedium zeigt sich.

Für tiefer gehende Untersuchungen des bakteriellen Lebens auf Blattoberflächen ist ein Modellorganismus hilfreich. Dies führt zu der Frage, welche Mikroorganismen auf Blättern vorkommen. In einer amerikanischen Studie¹ wurden

¹ HIRANO, S.S., UND C.D. UPPER (1991): Bacterial community dynamics, Seiten 271-294. In J.H. ANDREWS and S.S. HIRANO (ed.), *Microbial ecology on leaves*. Springer-Verlag, New York.

Zellzahlen für verschiedene Populationen von Bakterien auf Blättern der Ackerbohne bestimmt. Beschrieben wurden darin Bakterien, die Namen tragen wie *Xanthomonas*, *Pseudomonas* und *Erwinia*. In der Studie wurde deutlich, dass diese Bakterien zwar in einer hohen Zellzahl auf einzelnen Blättern auftraten, auf anderen Blättern dagegen nicht nachweisbar waren. Ihr sporadisches Auftreten lässt vermuten, dass diese Mikroorganismen möglicherweise durch die Luft auf einem Blatt landeten oder von einem Insekt übertragen wurden und sich dort vermehrten. Es zeigte sich weiterhin, dass Bakterien der Gattung *Methylobacterium* zahlenmäßig sehr häufig auf Blattoberflächen vorkommen. Im Unterschied zu den erstgenannten Organismen wurden Bakterien der Gattung *Methylobacterien* auf allen Blättern gefunden und bildeten eine konstant hohe Population. Es handelt bei diesen Bakterien um sogenannte Methyilotrophe. Diese sind in der Lage, in Gegenwart von einfachen reduzierten Kohlenstoffverbindungen mit nur einem Kohlenstoffatom wie z.B. Methanol zu wachsen. *Methylobacterium*-Arten sind fakultativ methyilotroph, d.h. sie können auch eine begrenzte Anzahl anderer Verbindungen wie z.B. organische Säuren als Kohlenstoffquellen nutzen. Methyilotrophe lassen sich sehr leicht auf Blättern nachweisen. Wenn wir Blätter nicht auf ein komplexes Vollmedium mit vielen verschiedenen Kohlenstoffquellen drücken, sondern auf ein Minimalmedium, das lediglich Methanol als Kohlenstoffquelle enthält, wird die Population der methyilotrophen Bakterien deutlich sichtbar. Sie sind rosafarben pigmentiert, was auf die Anwesenheit von Carotinoiden zurückzuführen ist. Besonders interessant erscheint, dass sich diese Bakterien auf allen bislang dahingehend untersuchten Pflanzen nachweisen lassen, was durch eine ganze Reihe von Studien verschiedener Wissenschaftler dokumentiert wurde. Dies deutet auf eine sehr gute Anpassung an diesen Lebensraum hin und eine besondere Eignung dieser Bakteriengruppe, sich dort zu vermehren. Wir verwenden sie in meiner Arbeitsgruppe deshalb als Modell, um spezifische Fragen zu stellen: Wo genau befinden sich *Methylobacterien*? Wie passen sie sich an die Umgebung an?

Zunächst zur Frage, wo genau sich diese Bakterien auf der Blattoberfläche befinden. Dazu haben wir die Bakterien mit einem grün fluoreszierenden Protein markiert und können sie so auf Blättern als Stäbchen erkennen und lokalisieren. Die Aufnahme einer Reihe von fluoreszenzmikroskopischen Bildern dieser „leuchtenden“ Bakterien auf Blättern der Luzernepflanze haben uns folgendes gezeigt: Schon die Oberfläche der Keimblätter ist dicht mit Bakterien besiedelt, die dort große Aggregate bilden. Auch die Folgeblätter sind besiedelt, hier insbesondere die untere, besser geschützte Blattfläche. Insbesondere sind sie dort an der Basis von Blatthärchen zu finden, die als Verdunstungsschutz dienen und auch der Abwehr von Freßfeinden. Ausserdem sitzen sie auch hier in den Vertiefungen, die sich zwischen benachbarten Epithelzellen ausbilden. Desweiteren konnten wir beobachten, dass *Methylobacterium* auch in der Lage ist, in das Blattinnere einzudringen. Dort kommen die Bakterien in den Zwi-

schenräumen der pflanzlichen Zellen vor. Bilder von Spaltöffnungen, die mit Methylobakterien gefüllt erscheinen, legen nahe, dass sie über diese Eintrittspforten ins Pflanzeninnere gelangen, ein Weg, der auch von pathogenen Bakterien bekannt ist.

Welche Mechanismen gibt es nun zur Anpassung an das Leben auf Blattoberflächen? Als ein wichtiger Faktor wurde die Pigmentierung identifiziert. Mit Carotenoiden schützen sich die Zellen vor der UV-Strahlung, die die Entstehung radikalischer Sauerstoffverbindungen auslösen und zur Schädigung der DNA führen. Viele der Bakterien auf Blattoberflächen sind pigmentiert. Wie bereits erwähnt, gilt dies auch für methyilotrophe Bakterien, die auffällig rosafarben sind.

Welche weiteren Faktoren sind für die Besiedlung der Phyllosphäre wichtig? Es ist relativ naheliegend, den Stoffwechsel der Methylotrophen anzuschauen. Wie bereits erwähnt, können Methylotrophe, wie der Name suggeriert, auf Methanol (Methylalkohol) und methylierten Verbindungen wachsen. Das Wachstum mit dieser Einkohlenstoffverbindung erfordert besondere Proteine. Ich möchte auf diesen Metabolismus zunächst eingehen, bevor ich zur Frage der Bedeutung für das Leben in Assoziation mit Pflanzen zurückkomme. Das Prinzip des methyilotrophen Stoffwechsels von *Methylobacterium* liegt darin, die reduzierte Kohlenstoffquelle, z.B. Methanol, vollständig zu oxidieren, wobei Kohlendioxid als Endprodukt entsteht. Dabei gewinnt die Zelle Reduktionsäquivalente, die sie zur Energiegewinnung einsetzt. Als Zwischenprodukt entsteht Formaldehyd, das zum einen für die Biosynthese von Zellbestandteilen verwendet werden kann oder unter Gewinnung von Energie zu Kohlendioxid umgesetzt werden kann. Die Entstehung von Formaldehyd stellt einen zentralen, aber kritischen Punkt im Stoffwechsel dar. Formaldehyd ist einerseits ein notwendiges Zwischenprodukt, aber andererseits ist es auch sehr toxisch und schädigt Zellbestandteile. Die Zelle muss es also sehr effizient umsetzen und seine Anhäufung verhindern. Tatsächlich konnten wir in unseren Untersuchungen feststellen, dass für die Oxidation von Formaldehyd eine ganze Reihe von Enzymen verantwortlich sind. Wir konnten zeigen, dass es zwei parallele Stoffwechselwege gibt. Dabei wird die Ein-Kohlenstoffverbindung Formaldehyd zunächst an Hilfs- oder Cofaktoren gebunden, bevor es katalytisch weiter umgesetzt wird. In einem dieser Wege wird Tetrahydrofolat verwendet, das in praktisch allen Organismen Vorläufer für verschiedene Biosynthesen liefert, zum Beispiel als Ausgangsmolekül für die Bausteine der DNA. Tetrahydrofolat stellt für uns Menschen ein Vitamin dar, es ist somit eine essentielle Verbindung, die wir mit der Nahrung aufnehmen müssen. Methyilotrophe Bakterien besitzen Tetrahydrofolat ebenfalls, besitzen aber zusätzlich - und das ist für ihr Wachstum in Gegenwart von Methanol entscheidend - einen zweiten Weg zur Oxidation von Formaldehyd. In diesem kommt ein anderer Cofaktor zum Einsatz, der dem

Tetrahydrofolat ähnelt, das sogenannte Tetrahydromethanopterin. Dieses Molekül war zuvor nur aus methanogenen Archaeen bekannt, strikt anaeroben Organismen, die für die Methanbildung verantwortlich sind – also dem Prozess, den der Preisträger, Professor Thauer, im Wesentlichen aufgeklärt und die daran beteiligten Enzyme erstmals beschrieben hat. Dieser Prozess der Methanogenese läuft formal ausgehend von Kohlendioxid über die Oxidationsstufen der Ameisensäure, des Formaldehyds und des Methanol bis zum Methan. Die Methylophen besitzen zum Teil ganz ähnliche Enzyme wie die methanogenen Archaeen, aber auch neuartige Enzyme, wie wir in unseren Studien gefunden haben. Wenn ich an dieser Stelle wir sage, möchte ich hervorheben, dass dieses „wir“ Herrn Thauer mit einschließt. Tatsächlich habe ich in meiner Postdoktorandenzeit diese Enzyme in seiner Arbeitsgruppe gemessen und begonnen, sie zu charakterisieren. Methylophen Bakterien können durch eine raffinierte Kombination der Enzyme ihres Stoffwechsels Formaldehyd sehr effizient umsetzen. Ein erster Trick, den sie einsetzen, um eine Anhäufung von Formaldehyd zu verhindern, ist die Verwendung einer irreversiblen Enzymreaktion. Desweiteren sichert sich die Zelle mit einem Formaldehyd-aktivierenden Enzym ab, indem sie die spontane Reaktion des Formaldehyds mit dem Cofaktor Tetrahydromethanopterin beschleunigt. Alle Enzyme dieses Weges sind essentiell für das Wachstum in Anwesenheit von Methanol.

Nachdem wir wissen, welche Enzyme für die Umsetzung von Methanol verantwortlich sind und die kodierenden Gene identifiziert haben, können wir testen, wie wichtig diese für die Besiedlung von Pflanzen sind. Aber warum sollte Methanol für die Besiedlung von Pflanzen überhaupt wichtig sein? Tatsächlich produzieren Pflanzen Methanol, das auch als Holzgeist bezeichnet wird. In ihren Zellwänden besitzen die Pflanzen Enzyme, die Methylgruppen von Zuckern in den Zellwänden hydrolytisch abspalten. Diese Reaktion ist während des Wachstums der Pflanzen für den Aufbau der pflanzlichen Zellwände sehr wichtig. Unsere Arbeitshypothese war, dass methylophen Bakterien das Methanol der Pflanze als Energie- und Kohlenstoffquelle verwenden und so einen Wachstumsvorteil gegenüber anderen Mikroorganismen haben. Wir können dazu zum Beispiel eine Mutante verwenden, bei der der Methanolstoffwechsel beeinträchtigt ist. Mit Hilfe von Konkurrenzexperimenten haben wir diese Hypothese überprüft. Dazu mischt man den Wildtyp im gleichen Mengenverhältnis mit einer Mutante und verfolgt, ob die Mutante konkurrenzfähig ist. Wir haben den Wildtyp der Methylobakterien mit einer Mutante gemischt, deren Methanolstoffwechsel beeinträchtigt ist. Mit dieser Mischung haben wir Pflanzensamen inokuliert und getestet, ob sich der Anteil der im Methanolstoffwechsel gestörten Mutante im Verhältnis zum Wildtyp während der Kolonisierung der Pflanzen verändert. Wir konnten zeigen, dass sich das Verhältnis der beiden Stämme zu Ungunsten der Mutante verschiebt. Das bedeutet, dass die Mutanten beim Wachstum auf der Pflanze einen Nachteil gegen-

über dem Wildtyp haben. Daraus können wir schließen, dass die Fähigkeit, Methanol zu verwenden, beim Wachstum auf der Pflanze von Bedeutung ist. Dennoch können die Mutanten sich vermehren, wenn wir sie allein auf sterile Pflanzen geben – d.h. wenn sie ohne Konkurrenz sind. Daraus schließen wir, dass sie auf den Pflanzen auch noch andere Kohlenstoffquellen nutzen können als Methanol.

Wir haben bislang gesehen, dass die Methanolumsetzung von Bedeutung für die Vermehrung dieser Bakterien auf der Pflanze ist. Dies hatten wir vermutet und konnten diese Vermutung durch unsere Experimente bestätigen. Spannend finden wir weiterhin, neue Proteine zu identifizieren, die wichtig für das Wachstum auf der Pflanze sind und deren Bedeutung wir noch nicht kennen. Ich möchte nun im letzten Teil zeigen, wie wir solche bakteriellen Proteine, die für die Besiedlung von Pflanzen notwendig sind, gefunden haben. Das experimentelle Verfahren, das wir angewandt haben, basiert auf der Analyse des Proteoms, der Gesamtheit der Proteine der Zellen. Dem zugrunde liegt die Beobachtung, dass Zellen die Synthese von Proteinen ihren Bedürfnissen anpassen. So werden in der Regel nicht mehr benötigte Proteine auch nicht mehr hergestellt bzw. abgebaut, um Ressourcen zu sparen. Demgegenüber werden neu benötigte Proteine verstärkt produziert. Das Gesamtmuster der Expression aller Proteine gibt aus diesem Grund wertvolle Aufschlüsse darüber, welche Proteine unter einer bestimmten Bedingung für die bakterielle Zelle wichtig sind. Wir haben deshalb das Proteom von Zellen in der Phyllosphäre mit dem Proteom von Zellen auf einer synthetischen Oberfläche verglichen, um zu lernen, welche Proteine spezifisch für den Lebensraum Blattoberfläche sind. Eine etablierte Technik für Proteomanalysen ist die zweidimensionale Gelelektrophorese, in der die Proteine nach ihrem isoelektrischen Punkt und ihrem Molekulargewicht nacheinander in zwei Dimensionen getrennt werden. Mit dieser Methode war es uns möglich, die Proteinmuster verschiedener Proben miteinander zu vergleichen und die Proteine zu identifizieren, die charakteristisch für die Pflanzenbesiedlung sind. Dies hat uns erlaubt, zahlreiche Proteine zu finden, die bei der Besiedlung der Pflanze vermutlich eine wichtige Rolle spielen. Diese fallen in mehrere Kategorien. So haben wir bekannte Proteine aus dem methylotrophen Stoffwechsel gefunden, wie das Formaldehyd aktivierende Enzym und andere Proteine, die möglicherweise an der Verstoffwechselung alternativer Kohlenstoffquellen beteiligt sein könnten. Desweiteren haben wir Transportproteine für Eisen, Phosphat und Sulfat identifizieren können, was nahe legt, dass Eisen, Phosphor und Schwefel limitierend auf Blattoberflächen sein könnten. Ausserdem haben wir eine Reihe von klassischen sogenannten Stressproteinen gefunden. Damit sind Helferproteine gemeint, die an der Proteinfaltung beteiligt sind, die die DNA schützen oder auch toxische Sauerstoffmoleküle wie Superoxidionen oder Wasserstoffperoxid unschädlich machen. Sie entstehen verstärkt unter Lichteinfluss als Nebenprodukt im Stoffwechsel. Ferner haben wir Proteine gefunden, deren Funktion wir noch nicht kennen. Diese zu entschlüsseln ist

keine leichte Aufgabe. Ein erster Schritt hierzu kann aber die Aufklärung der Bedingungen sein, unter denen diese Proteine verstärkt produziert werden. Eine vierte Kategorie von Proteinen beinhaltet Regulatoren. Diese Gruppe war durch lediglich einen Kandidaten repräsentiert, der dafür umso interessanter erschien. Wir haben ihn deshalb Phyllosphäre-induzierten Regulator PhyR genannt. Regulatoren sind wichtig, da sie die Expression vieler Gene steuern.

Den putativen Regulator haben wir näher analysiert und auf seine Bedeutung getestet. Dazu wurde von uns das Gen für PhyR aus dem Organismus entfernt, und es wurden wiederum Konkurrenzexperimente mit dem Wildtyp durchgeführt. Dabei zeigt sich, dass eine Mutante ohne den Regulator, nach gemeinsamer Inokulation mit dem Wildtyp nach einiger Zeit gar nicht mehr nachweisbar ist. Auch Einzelinokulationsexperimente ohne Konkurrenz zeigen eindeutig, dass eine Mutante ohne dieses Regulatorprotein nicht mehr in der Lage ist, Pflanzen zu besiedeln. Es handelt sich also offensichtlich um einen wichtigen Regulator. Aber welche Gene werden nun durch den Regulator PhyR kontrolliert? Wir konnten zeigen, dass PhyR einen Großteil derjenigen Gene reguliert, die beim Wachstum der Bakterien auf der Pflanzenoberfläche verstärkt angeschaltet werden. Dies gilt insbesondere für die Gruppe der bereits erwähnten Stressproteine. Im Labor haben wir die Mutante ohne den Regulator PhyR verschiedenen Stressbedingungen wie UV-Strahlung, Austrocknung, erhöhter Salzkonzentration, Temperaturerhöhung und reaktiven Sauerstoffspezies ausgesetzt. In all diesen Fällen weist die PhyR-Mutante einen klaren Defekt auf. PhyR vermittelt demzufolge eine Resistenz gegenüber verschiedenen Umweltfaktoren. Interessanterweise sind es solche, die für die natürliche Umgebung der Bakterien während der Besiedlung von Pflanzen wichtig sind. In unseren derzeitigen Untersuchungen klären wir die Funktionsweise dieses Regulators nun auf molekularer Ebene weiter auf. Interessanterweise kommen ähnliche Proteine auch in anderen Bakterien vor, wo ihre Funktion noch unbekannt ist.

Am Ende meines Vortrags möchte ich noch auf drei offene Fragen zu sprechen kommen. Erstens: Welche Bedeutung hat die Besiedlung durch Mikroorganismen für die Pflanze und den globalen Kohlenstoffkreislauf? Wir wissen, dass methylotrrophe Bakterien Methanol auf den Pflanzen verwerten. Darauf deuten die Konkurrenzexperimente hin sowie die Expression von Proteinen des methylotrphen Stoffwechsels während der Pflanzenbesiedlung. Wir wissen nicht, wie viel Methanol von Mikroorganismen auf oder insbesondere auch in den Pflanzen wieder zu Kohlendioxid umgesetzt wird, das die Pflanze dann wiederum verwerten kann. Schätzungen besagen, dass 100 Tg Methanol pro Jahr von Pflanzen produziert werden. Wie hoch wäre diese Zahl, wenn es keine methylotrphen Bakterien auf den Pflanzen gäbe? Was bedeutete für uns Menschen dann ein Waldspaziergang? Zweitens: Methylotrrophe Bakterien fördern die Keimung von Samen und das Wachstum von Pflanzen. Zahlreiche Studien zeigen dieses an sich bekannte Phänomen. Seine Ursache allerdings ist noch unbekannt. In diesem Zusammenhang wird über die Produktion von Pflanzen-

hormonen durch die Bakterien spekuliert. Drittens: Könnte es sein, dass methylootrophe Bakterien eine Rolle dabei spielen, das Wachstum pflanzenpathogener Organismen zu begrenzen? Sehen wir also deshalb in der Regel gesunde Pflanzen, weil es kommensale Bakterien, eben nicht-pathogene „Platzhalter“ gibt? Diese könnten entweder aktiv auf andere Mikroorganismen wirken oder passiv, indem sie um Nährstoffe wie z.B. Makro- oder Spurenelemente konkurrieren und Nischen besetzen, die auch von pflanzenschädlichen Mikroorganismen besiedelt werden. Es handelte sich dann um pro-biotische Stämme.

Ich möchte zusammenfassen: Pflanzen beherbergen eine Population von Mikroorganismen auf ihren Blattoberflächen. Viele dieser Bewohner fügen der Pflanze keinen Schaden zu und haben sich an diesen Lebensraum angepasst. Eine wichtige Gruppe von Bakterien, die auf allen untersuchten Blattoberflächen zu finden ist, sind *Methylobacterium*-Arten. Diese besitzen einen Stoffwechsel, der auf der Umwandlung von Einkohlenstoffverbindungen basiert und es ihnen ermöglicht, von der Pflanze produziertes Methanol zu nutzen. Proteomanalysen eignen sich besonders gut, wichtige Proteine für die Anpassung an das Leben auf Blattoberflächen zu identifizieren. PhyR stellt einen Schlüsselregulator dar, der solche Mechanismen reguliert.

Am Schluss möchte ich meinen Mitarbeitern für ihr Engagement danken und Ihnen allen für die Aufmerksamkeit.